

Verstärkung und Visualisierung schwacher, verrauschter, mehrflächiger mikroskopischer Strukturen an der Auflösungsgrenze

Felix Margadant

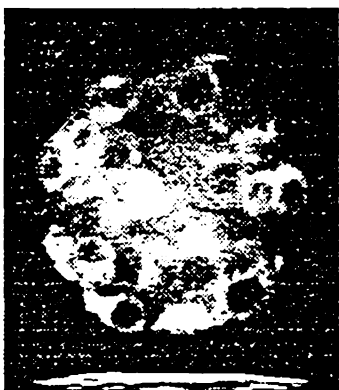
Institut für Biomed. Technik und med. Informatik der Universität und ETH Zürich
Gloriastr. 35, CH-8092 Zürich, Schweiz, email: hix@biomed.ee.ethz.ch

EINLEITUNG

Zweidimensionale Bilddaten werden meist nicht visualisiert, sondern lediglich aufbereitet und angezeigt. Die komplexe Aufgabe, Objekte in diesen Bildern zu sehen überlassen wir unserem hochentwickelten Sehvermögen. Dies ist bei dreidimensionalen, diskret vorliegenden Datensätzen auf den heutigen Displays nicht möglich. Darüberhinaus ist deren Visualisierung immer mit einer erheblichen Datenreduktion, allgemein der Projektion von Volumina auf Flächen, verbundenⁱ. Der behandelte Apparat ist für dreidimensionale Lichtmikroskopie entwickelt worden, doch Aussagen, die nicht aufnahmetechnischer Natur sind, sollten auf andere bildgebende Verfahren anwendbar sein. Wir nehmen hier an, dass eine Bildaufbereitung^{ii, iii} soweit möglich^{iv}, bereits erfolgt ist.



1a. Originale Bildserie.
Lichtverlust gegen das
Zentrum der Probe und in der
Seitenansicht gegen oben.



1b. Vorkorrigierter Bildstapel.
Drifts wurden eliminiert, aber
die dunkeln Kerne unterscheiden
sich dennoch nicht vom
Hintergrund (siehe ??)

PROBLEMATIK

Die Qualität lichtmikroskopischer Bilder ist durch ein sehr rigides Unschärfeprodukt, SchärfexDynamik, eingegrenzt. Nach dieser Begriffsbildung ist eine untersuchte Struktur nahe der Auflösungsgrenze, wenn sie sich in Bezug auf GrössexKontrast nur knapp messbar von ihrer Umgebung unterscheidet. Die Problematik solche 'schwache' Strukturen herauszuarbeiten ist allgemeiner, als 'kleinste' zu detektieren und ist offensichtlich allen kontrastarmen Bildern gemein, unabhängig vom Aufzeichnungsverfahren.

Im eindimensionalen Fall lässt sich diese Relation leicht ausformulieren: dem diskreten Signal $f(x)$ sei eine Rauschleistung $n(x)$ überlagert, welche für eine gegebene Szene quantifizierbar ist (im Falle der Lichtmikroskopie beispielsweise die Wurzel der Lichtleistung^v), beispielsweise als Wahrscheinlichkeit $p(x|x_i)$, dass man x misst, wenn der Wert x_i vorliegt. Dies lässt sich aufsummieren zu der

Wahrscheinlichkeit $p(A_i|x)$, dass eine Struktur A_i zugrunde liegt, wenn man x misst - je schlechter der Kontrast von A_i zu andern Strukturen ist, desto kleiner ist p . Ein mögliches Objekt, bestehend aus den Messwerten $\{x_i\}$, kann unter einer Vorgabe für die Zuverlässigkeit des Erkennens α (z.B. $\alpha=5\%$), mit $\prod_{x \in \{x_i\}} (1 - p(A_i|x)) \leq \alpha$ bestätigt, resp. verworfen

werden. Bei schwachem Kontrast muss das Objekt aus zahlreichen Messwerten bestehen, also gross sein. Im mehrdimensionalen Fall wird die erforderliche Grösse durch den kubischen Zuwachs an Messwerten zwar entschärft, dies ist jedoch auf kompakte Objekte beschränkt, linienhafte Elemente werden mit erhöhter Wahrscheinlichkeit falsch erkannt, da die Gesamtzahl der Messpunkte im Volumen gegenüber Ebenen und Linien höher ist.

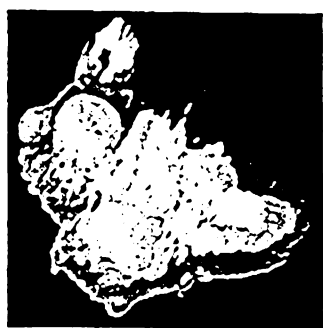
METHODEN

Die meisten echten Volumenvisualisierungsverfahren projizieren den 3D Datensatz entlang von Sehstrahlen auf die Sichtebeine, im diskreten Fall spricht man von Ray-Castingⁱ. Um Beleuchtungseffekte und Lichtreflexionen zu simulieren, bedienen sie sich des Gradientenshadingⁱ, d.h. sie ziehen den Gradienten der Intensitätswerte im Volumen hinzu und interpretieren ihn als Normale einer fiktiven Oberfläche, die spiegelt, glänzt und absorbiert. Neben der einfachen Implementation und den realistisch aussehenden Projektionen hat dies den Vorteil, dass kleinere Strukturen stärker betont werden, da Objektübergänge besonders gewichtet werden. Ein Partikel, dessen Abmessungen um einen Faktor $q < 1$ kleiner sind als das Beobachtungsvolumen, hat ein q^3 mal geringeres Volumen aber nur eine q^2 mal geringere Fläche, der Gewinn ist also q^{-1} . Dieses Vorzugs wegen entwerfen wir unsere Verstärkung so, dass sie als Vorverarbeitung für's Gradientenshading dient und diesem ausreichend greifbaren Kontrast liefert. Die zweite verbreitete Klasse von Visualisierungsverfahren wandelt alle Objekte vorerst in diskrete Beschreibungen ihrer Oberflächen um, meist Polygone, und verwendet diese für den Bildaufbau. Dieses 2½D Solidmodelling unterscheidet sich für unsere Anwendung unwesentlich, da es gleiche Kontrastverhältnisse wie das Gradientenshading schafft und das Erkennen von Strukturen auch nicht entschärft, einzig der Begriff der Verstärkung ist hier sinnlos (siehe Figur 2).



2a. Ray Casting ..

Die Bildberechnung liefert einen geringen Tiefeneindruck



2b. .. gegen Solid Modelling

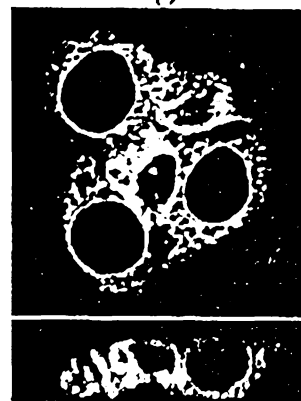
Die Objekte sind hier binär, sie besitzen keine innere Struktur

Es bestehen zwei grundsätzliche Wege, einem Objekt zusätzlichen Kontrast zu attribuieren: erstens Objekteigenschaften zu definieren und diesen dann einen Wert zuzuweisen (eine rein lichtmikroskopische Anwendung ist in ^{vii} beschrieben), welcher sich stark abhebt. Zweitens kann der Hintergrund 'vervollständigt' werden, er lässt sich oft leichter als feine Strukturen erkennen und zu einem geschlossenen Gebilde zusammenfügen. Nach dem völligen Löschen desselben, liegen die Objekte stärker separiert vor. Für diesen Ansatz existiert eine ganze Klasse von morphologischen Operationen^{viii}, die es ermöglichen, solche Gruppierungen vorzunehmen. Andererseits lassen sich auf der Erkennungsseite mehr als nur Intensitäten heranziehen: Texturmasse sind weniger empfindlich auf die Bildhelligkeit, da beispielsweise nur relative Intensitäten spezifiziert werden müssen. Man kann dabei auch ganz auf das Intensitätsniveau verzichten und nur noch die zweidimensionalen Ortsfrequenzen (die Dichte der Fluktuationen) in einem Bildausschnitt verwenden^{ix}. Auch schwächste Texturen lassen sich durch Variation der Maskengröße zuverlässig erkennen (siehe Figur 3). Für diese Aufnahme in wurde keine Maske, sondern eine Filterfunktion mit endlicher Frequenzbreite genommen, um Rechenzeit zu sparen. Bei guter Aufnahmequalität ist es sehr vorteilhaft, 3D Texturen zu verwenden, da die Ortsauflösung durch die erhöhte Anzahl Messwerte verbessert wird. Ist andererseits eine Achse zuwenig hoch aufgelöst, kann sie nicht mehr als Texturträger herangezogen werden. Für ausgedehnte Objekte besitzen Texturen den Vorteil, dass sie in alle Raumrichtungen charakteristische Muster besitzen dürfen, was die Detektionsgenauigkeit um die Dimensionalität potenziert. Selbst für eindimensionale Objekte fällt hierbei noch der Vorteil an, dass eine Objekt- ausrichtung ermittelt werden kann.

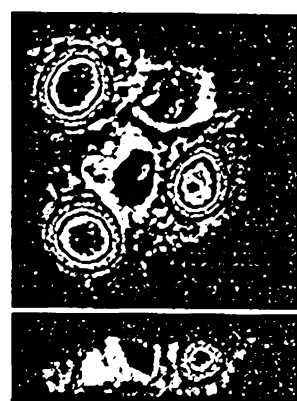
RESULTATE

Für Bilddatensätze an der geometrischen Geräteauflösung lässt sich mit Schwellen- und Textur- detektoren in Kombination mit morphologischen Operationen der Kontrast um die Größenordnung Signalabstand×Achsenauflösung gewinnen. Das Charakterisieren von Objekten kann elegant halb- automatisch durch Gruppieren im Kontrastraum.

erfolgen - wird der ganze Bildstapel auf Textur- muster untersucht, so bilden sich i.a. klar separierte Gruppen aus. Diese Trennung reagiert allerdings sehr empfindlich auf die homogene Qualität der Bilddaten, so dass sich eine Vorverarbeitung empfiehlt. Visualisierung ist also auf diesem Niveau ein quantitativer Prozess - im Widerspruch zur Vorstellung, die man mit einer reinen Kontrast- verbesserung verbindet.



3a. Kerne und Hintergrund auf demselben Kontrastniveau



3b. Kerntextur, Hintergrund gelöscht

DISKUSSION

Die dargestellten Methoden verbessern den Kontrast in der jeweiligen Szene recht erheblich, doch leider mangelt es ihnen nicht nur an der Integration in ein umfassenderes Theoriegebäude, sondern sie sind auch i.a. nicht kumulativ anwendbar. So zerstört eine Dämpfungs- oder Intensitätskorrektur oft die Feintextur einer Bildserie. Bildkorrektur und Visualisierung sind also nicht so unabhängig, wie es in der Einleitung gerne gefordert wäre. Weiter ist der hier aufgezeigte quantitative Charakter der Visualisierung als erheblicher Nachteil zu sehen, der, da unintuitiv, eine gezielte Steuerung durch den Benutzer beinahe verunmöglicht. Die gefundenen Automatismen sind also nicht 'erfreuliche Nebenresultate', sondern eine erforderliche Mindestvoraussetzung.

REFERENZEN

- i 3D Computer Graphics, A. Watt, Addison Wesley, 1993
- ii Multispectral linear filtering of high resolution EESL images by geostatistics, P.B. Prasad et al., Microsc. Microanal. Microstruct. 1991
- iii Electronic Light Microscopy (ed. D.Shotton), H. van der Voort, Wiley-Liss, 1993
- iv Practical Limits to the Deconvolution by Kriging, D.Jeulin, Journal of Microscopy, Mai 1992
- v Axial Resolution of a Scanning Optical Microscope, M.J.Offside, Scanning Imaging Vol. 1028, 1988
- vi Confocal Microscopy, ed. T. Wilson, London Press 1990
- vii Pseudo-Diffusion Correction, F.Margadant, 3D- Imaging Science, Oxford 1996
- viii Image Algebra and Morphological Image Processing, P. D. Gader et al., SPIE Proceedings, 1992
- ix Attribute Mapping: Ray-Casting Negative Structures, F. Margadant et al., MICRO96, London 1996